

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 23 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(S)

研究期間：2012～2016

課題番号：24229008

研究課題名(和文)医薬品の体内動態の種差：PETマイクロドーズ臨床試験による研究

研究課題名(英文) Species difference in pharmacokinetics of widely used drugs: a PET microdosing study

研究代表者

畑澤 順 (Hatazawa, Jun)

大阪大学・医学系研究科・教授

研究者番号：70198745

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 121,200,000円

研究成果の概要(和文)：新規医薬品の開発に際しては、動物での体内動態や毒性を基に候補化合物が選択される。一方、動物では有効であったがヒトでは十分な効果が得られない、動物ではみられない副作用がヒトでは生じる、などの理由で開発が中止になる。本研究は、ヒトと動物の”体内動態の種差”を検証するための手法を開発し、医薬品の種差を検証した。

本研究の手法により、アルツハイマー病治療薬塩酸ドネペジルと難治性悪性腫瘍の放射線治療(中性子捕捉療法)に用いるホウ素担体医薬品の”体内動態の種差”を明らかにした。本研究の成果は、医薬品開発の迅速化・効率化につながり、医薬品の安全性を高めることに貢献する。

研究成果の概要(英文)：In the process of new drug development, species difference in pharmacokinetics induced a failure of clinical trial due to lack of expected treatment effect and/or unexpected adverse effect. The aim of the present study was to establish a method to elucidate species difference in whole-body distribution of new drug candidate compounds by means of animal and human PET studies.

We tested two drugs, Donepezil hydrochloride for Alzheimer's disease and borono-phenylalanine for boron neutron capture therapy of intractable cancers. Both compounds showed pharmacokinetic species difference in the PET studies. The present study contributes to rapid and efficient drug development, and to provide safe medicines by reducing unexpected adverse effects not predicted by animal studies.

研究分野：核医学

キーワード：マイクロドーズ PET ドネペジル アセチルコリンエステラーゼ

## 1. 研究開始当初の背景

現在処方されている医薬品は、動物での薬物動態、すなわち組織への吸収(Absorption)、分布(Distribution)、代謝(Metabolism)、排泄(Excretion)の情報を元に開発された。本研究は、“動物レベルでのADMEがどの程度ヒトのADMEに近似しているか”を評価する。薬物動態の種差を明らかにし、創薬の早期過程におけるPETマイクロドーズ臨床試験の必要性を検証する。

これまで多数の創薬候補化合物の中から一つの開発薬剤を選択する際には、動物でのADME情報が選択の根拠となってきた。そのため、動物では有効であったがヒトでは十分な効果がない、動物ではみられなかった予期せぬ副作用が生じる、などのために治験段階で開発を中止せざるを得ないことがあり、“体内動態の種差”は医薬品開発の効率、安全性の上で大きな障害となってきた。これを克服するために、創薬過程の早期にヒトでのADME解析を行い、医薬品開発の迅速化、効率化を図られようとしている。すでに有用性が確立された多数の医薬品の体内動態の種差間の近似性または解離を解析することにより、以下の点を明らかにすることができる。

(1) PETマイクロドーズ臨床試験の必要性:種差が大きければ、創薬過程の早期にヒトでの体内動態を行う必要性、有用性は高い。

(2) 有用性が確立された医薬品の体内動態の必要条件:有用性が確立された医薬品では最低限投与量の何%が標的臓器に取り込まれなければならないのか?組織滞留時間は?排泄は?

(3) 医薬品の標的外臓器への集積と副作用の関係:標的外集積が副作用の発現に関与し、かつ標的外臓器集積の種差が大きい場合、PETマイクロドーズ臨床試験の必要性は高い。

## 2. 研究の目的

以下の4点を本研究課題の目的とする。

(1) すでに臨床的有用性が確立された多数の医薬品について、小動物とヒトで体内動態を測定し、種差の有無を検証する。

(2) 臨床的に有用性が確立された医薬品に共通する体内動態の特性を抽出する。

(3) 医薬品の標的臓器外集積を解析し、臨床上問題となっている副作用との関連を検証する。

(4) PETマイクロドーズ臨床試験を行っ

た際に、ヒトでの体内動態がどのようなであれば臨床的に有効な薬剤となりうるか、判断基準を提示する。

## 3. 研究の方法

### (1) 医薬品の放射性核種標識合成

大阪大学医学部附属病院にGMP準拠ホットラボ治験薬GMPレベルのPETマイクロドーズ臨床試験用薬剤の標識合成を行った。大阪大学大学院医学系研究科附属未来医療イメージングセンター(平成28年にPET分子イメージングセンターを改組)に信頼性基準下GLP準拠ホットラボを構築し、動物用PET標識薬剤の標識合成を行った。

### (2) 小動物の医薬品体内動態測定

本研究で整備した小動物用PET/CT(Siemens社製INVEON)で、C-11標識塩酸ドネペジルの体内動態を経時的に画像化した。C-11標識塩酸ドネペジルの体内動態計測後、臓器を摘出し各臓器の放射活性および組織コリンエステラーゼ活性を測定した。F-18標識ボロノフェニルアラニンの体内動態計測後、同一個体でF-18 fluoro-deoxy-glucoseとC-11 methionineでPET測定を行い、集積性を比較した。

### (3) 臨床PETマイクロドーズ試験の測定環境

PETマイクロドーズ臨床試験では、PET/CT装置、キュリーメーター・ウェルカウンターなど20項目の計測機器の定期的なキャリブレーションを行い、治験薬GMPおよびGCPに準拠した測定環境を構築した。高精度の血漿中代謝物分析を実施できる環境を整備し、医薬品の代謝物を検査室内で採血後直ちに測定できる信頼性の高い環境を整備した。PETマイクロドーズ臨床試験に際して、医薬品およびその代謝物の分画を考慮した解析が可能になった。血液中の未変化体の測定はマススペクトロシコピーを必要としたため、外部機関に委託した。

### (4) PETマイクロドーズ臨床試験

大阪大学医学部附属病院核医学診療科内の超高感度PET/CT装置を用いて、健康人を対象としたPETマイクロドーズ臨床試験を実施した。すでにアルツハイマー病治療薬として処方されている塩酸ドネペジルと難治性悪性腫瘍の放射線治療(中性子捕捉療法)の際に用いる腫瘍へのホウ素担輸送体(BPA:boronophenylalanine)の全身動態について、臨床PETで体内分布と経時の変化を画像化した。これにより、医薬品の“体内動態の種差”を解析した。

## 4. 研究成果

### (1) 塩酸ドネペジルの体内分布の種差

アルツハイマー病治療薬のPET標識薬剤(<sup>11</sup>C- Donepezil)の全身動態をラットおよび健康

成人について PET 撮像を行い、種差を定量的に評価した。ヒトでは心筋に高集積を認められたラットでは低集積であること、ラットでは副腎に高集積を認めたヒトでは集積が低いことを明らかにし、標的外臓器集積の種差を明らかにした (PET マイクロドーズ臨床試験が必要であることの証明)。

ラットの全身主要臓器において Donepezil のターゲットであるアセチルコリンエステラーゼ濃度を計測し、<sup>11</sup>C-Donepezil の全身分布と比較した。各臓器のアセチルコリンエステラーゼ濃度に対する集積の比率を求めたところ、肝、腎などの薬剤排泄臓器、膵臓、副腎、唾液腺などの腺組織において、<sup>11</sup>C-Donepezil はアセチルコリンエステラーゼ濃度に対して相対的に高集積を認めることが明らかになった (医薬品の標的組織、標的外組織への送達性を測定、医薬品の標的分子濃度と到達性を比較)。

健常人を対象とした <sup>11</sup>C-Donepezil の PET マイクロドーズ臨床試験を実施し、マイクロドーズ (100mg 以下) および薬理量を内服後の脳内分布ならびに全身分布の評価を行った。内服投与後の薬剤の血中濃度を計測し、内服量と血中濃度が正比例すること、マイクロドーズと薬理量で内服投与後の薬物動態に差がないこと、を明らかにした。薬理量投与時の薬物動態を、マイクロドーズの内服で推定できることを初めて立証した (PET マイクロドーズ臨床試験の方法論的妥当性の証明)。

## (2) ホウ素フェニルアラニンの体内分布の種差

ホウ素中性子捕捉療法では、腫瘍選択性の高いホウ素化合物を投与後中性子を照射し、ホウ素 (B-10) が中性子と核反応して放出される線とリチウム線により、放射線治療を行う。代表的なホウ素化合物として、ホウ素フェニルアラニン (borono-phenylalanine: BPA) が用いられる。この治療では、BPA の正常組織への集積が副作用の原因となる。実験動物では肝臓や膵臓などへの集積が高いため、腹部臓器の悪性腫瘍に対してホウ素中性子補足療法を行うことは困難と考えられてきた。<sup>18</sup>F-FBPA PET を行い、ヒトにおいても肝臓や膵臓への集積が高いか検討した。ヒトでは、肝臓や膵臓への高集積が認められず、明らかな種差を認めた。ホウ素中性子補足療法はヒトの腹部臓器悪性腫瘍にも適用可能であることを明らかにした。

小動物用 PET/CT 装置ならびに誘導結合プラズマ発光分光分析法 (ICP-OES) を用いて、ラットの移植腫瘍ならびに全身臓器へのホウ素濃度を <sup>18</sup>F-FBPA PET で測定した。同一個体に薬理量の BPA 投与を行い、全身分布後に腫瘍ならびに各臓器のホウ素濃度を ICP-OES を用いて計測を行った。

その結果、PET での FBPA 集積と ICP-OES にて実測したホウ素濃度は良好な相関関係を示した (相関係数=0.9)。また全投与量から計算された相対的組織濃度による評価では両者の値がほぼ一致し、FBPA PET を用いて組織中のホウ素濃度を正確に推定できることが明らかになった。

FBPA PET で測定された放射活性をもとに、治療量 (500mg/kg) の BPA を投与した場合の組織中のホウ素濃度を推定する方法を開発した。尿路以外の正常組織では 20ppm 以下と推定された。現在ガイドラインで推奨されている投与量 (500mg/kg) は中性子照射で正常組織に障害が発生しない量であることが確認された。

研究の目的に対応して、以下の結果が得られた。

(1) すでに臨床的有用性が確立された2種類の医薬品 (塩酸ドネペジル、ホウ素フェニルアラニンの F-18 標識体) について小動物とヒトで体内動態を測定し、種差が存在することを示した。

(2) 臨床的に有用性が確立された医薬品に共通する体内動態の特性は、標的臓器への集積があること、経口投与量と血中濃度が正比例していること (塩酸ドネペジルの場合)、血液中の未変化体分画が高いこと、などであった。

(3) 医薬品の標的臓器外集積には、塩酸ドネペジルとホウ素フェニルアラニンともに種差がみられた。塩酸ドネペジルでは、ヒト心筋への集積と徐脈の関連が示唆された。ホウ素フェニルアラニンでは、動物では膵臓への集積があるものの、ヒト膵臓へは集積を認めなかった。動物実験をもとに、これまでは適応が困難と考えられていた腹部悪性腫瘍に対しても中性子捕捉療法が可能であることを示した。

(4) 臨床的に有用な医薬品の PET マイクロドーズ試験では、経口薬塩酸ドネペジルでは、腸管吸収がすみやかであること、未変化体がすみやかに体循環に移行し、標的臓器に送達すること、血液中未変化体濃度が維持されること、標的臓器以外への集積もあること、が特徴であった。ホウ素フェニルアラニンは非標的臓器である正常組織への集積が低いことが特徴であった。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 7 件)

Watabe T, Ikeda H, Nagamori S,

Wiriyasermkul P, Tanaka Y, Naka S, Kanai Y, Hagiwara K, Aoki M, Shimosegawa E, Kanai Y, Hatazawa J. (18)F-FBPA as a tumor-specific probe of L-type amino acid transporter 1 (LAT1): a comparison study with (18)F-FDG and (11)C-Methionine PET. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2017 Feb;44(2):321-331. doi: 10.1007/s00259-016-3487-1. 査読有

Mochida I, Shimosegawa E, Kanai Y, Naka S, Matsunaga K, Isohashi K, Horitsugi G, Watabe T, Kato H, Hatazawa J. Whole-Body Distribution of Donepezil as an Acetylcholinesterase Inhibitor after Oral Administration in Normal Human Subjects: A <sup>11</sup>C-donepezil PET Study. Asia Ocean J Nucl Med Biol. 2017; 5(1): 3-9. DOI: 10.22038/AOJNMB.2016.7513 査読有

Isohashi K, Shimosegawa E, Naka S, Kanai Y, Horitsugi G, Mochida I, Matsunaga K, Watabe T, Kato H, Tatsumi M, Hatazawa J. Comparison of the image-derived radioactivity and blood-sample radioactivity for estimating the clinical indicators of the efficacy of boron neutron capture therapy (BNCT): 4-borono-2-18F-fluoro-phenylalanine (FBPA) PET study. EJNMMI Res. 2016 Dec;6(1):75. DOI: 10.1186/s13550-016-0230-7 査読有

Shimosegawa E, Isohashi K, Naka S, Horitsugi G, Hatazawa J. Assessment of (10)B concentration in boron neutron capture therapy: potential of image-guided therapy using (18)FBPA PET. Ann Nucl Med. 2016 Dec;30(10):749-755. DOI: 10.1007/s12149-016-1121-8 査読有

Watabe T, Hatazawa J. (18)F-FBPA as a tumor specific tracer of L-type amino acid transporter 1 (LAT1): PET evaluation in tumor and inflammation compared to (18)F-FDG and (11)C-methionine. Hell J Nucl Med. 2015 Sep-Dec;18 Suppl 1:149. <http://www.nuclmed.gr/magazine/eng/sept15/suppl.pdf> 査読有

Hanaoka K, Watabe T, Naka S, Kanai Y, Ikeda H, Horitsugi G, Kato H, Isohashi K, Shimosegawa E, Hatazawa J. FBPA PET in boron neutron capture therapy for

cancer: prediction of 10B concentration in the tumor and normal tissue in a rat xenograft model. EJNMMI Res. 2014 Dec 20;4(1):70. eCollection 2014 Dec. DOI: 10.1186/s13550-014-0070-2 査読有

Watabe T, Naka S, Ikeda H, Horitsugi G, Kanai Y, Isohashi K, Ishibashi M, Kato H, Shimosegawa E, Watabe H, Hatazawa J. Distribution of intravenously administered acetylcholinesterase inhibitor and acetylcholinesterase activity in the adrenal gland: <sup>11</sup>C-donepezil PET study in the normal rat. PLoS One. 2014 Sep 16; 9(9):e107427. doi: 10.1371/journal.pone.0107427. 査読有

[学会発表](計 20 件)

Watabe T, Ikeda H, Nagamori S, Wiriyasermkul P, Hagiwara K, Naka S, Kanai Y, Aoki M, Horitsugi G, Isohashi K, Kato H, Shimosegawa E, Kanai Y, Hatazawa J. Evaluation of Tumor Specific Tracer targeting L-type Amino Acid Transporter 1 (LAT1): <sup>18</sup>F-FBPA PET study in Tumor and Inflammation compared to <sup>18</sup>F-FDG and <sup>11</sup>C-Methionine. 2nd Asian School Nuclear Medicine Forum (ANMAF 2016). May 6-7, 2016, Shanghai/China.

Shimosegawa E, Isohashi K, Hanaoka K, Naka S, Kanai Y, Horitsugi G, Hatazawa J. Estimation of 10B concentration in BNCT: Potential of image-guided therapy by <sup>18</sup>FBPA-PET. The 1st Academic Meeting of Taiwan Society of Neutron capture Therapy. Dec 5, 2015, Taipei/Taiwan.

Shimosegawa E, Isohashi K, Hanaoka K, Naka S, Kanai Y, Horitsugi G, Hatazawa J. Estimation of 10B concentration in BNCT: Potential of image-guided therapy by <sup>18</sup>FBPA-PET. 11th Asia Oceania Congress of Nuclear Medicine and Biology (AOCNMB 2015). Oct 31-Nov 4, 2015, Jeju/Korea.

Watabe T, Hatazawa J. 18F-FBPA as a tumor specific tracer of L-type amino acid transporter 1 (LAT1): PET evaluation in tumor and inflammation compared to <sup>18</sup>F-FDG and <sup>11</sup>C-Methionine. Third International Medical Olympiad, Oct 2-4, 2015, Thessaloniki/Greece.



Isohashi K, Kato H, Watabe H, Hatazawa J. Whole body biodistribution of intravenously administered acetylcholinesterase inhibitor in the normal rat:  $^{11}\text{C}$ -Donepezil PET study. Annual Congress of the European Association of Nuclear Medicine (EANM 2013). Oct 19-23, 2013, Lyon/France.

Mochida I, Shimosegawa E, Watabe T, Kanai Y, Naka S, Isohashi K, Kato H, Watabe H, Hatazawa J. Whole body pharmacokinetics of C-11 Donepezil hydrochloride in humans: A positron emission tomography study. Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging's 60th Annual Meeting (SNM 2013). June 8-12, 2013, Vancouver/CANADA.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

畑澤 順 (HATAZAWA, Jun)

大阪大学大学院医学系研究科・教授

研究者番号：70198745

### (2) 研究分担者

下瀬川 恵久 (SHIMOSEGAWA, Eku)

大阪大学大学院医学系研究科・寄附講座教授

研究者番号：30370258

### (3) 研究分担者

加藤 弘樹 (KATO, Hiroki)

大阪大学大学院医学系研究科・講師

研究者番号：20448054

### (4) 研究分担者

渡部 直史 (WATABE, Tadashi)

大阪大学大学院医学系研究科・招へい教員

研究者番号：90648932

### (5) 研究分担者

金井 泰和 (KANAI, Yasukazu)

大阪大学大学院医学系研究科・寄附講座助教

研究者番号：60397643